

(19)



JAPANESE PATENT OFFICE

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number: **11064336 A**

(43) Date of publication of application: **05 . 03 . 99**

(51) Int. Cl.

**G01N 33/543**  
**G01N 33/53**  
**G01N 33/536**

(21) Application number: **10178594**

(22) Date of filing: **25 . 06 . 98**

(30) Priority: **30 . 06 . 97 US 97 885285**

(71) Applicant: **BAYER CORP**

(72) Inventor: **RHEINHEIMER GARY W**  
**YIP MEITAK T**

(54) **METHOD FOR DETECTING ANALYSIS OBJECT  
BY IMMUNOCHROMATOGRAPHY**

(57) Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To permit control of nonspecific bonding of a labeled bonding partner to a negatively charged matrix substance, by combining a fluid sample with polyalkoxyl amine surfactant.

SOLUTION: In relation to a method for measuring a concentration of an object to be analyzed in a fluid sample, there are included a step of preparing a matrix where the fluid sample can flow by a capillary

phenomenon, a step of combining the fluid sample with a cationic surfactant which is polyalkoxyl amine, and a step of bonding a composite of the object to be analyzed and a labelled specific bonding partner to an immobilized specific bonding partner in proportion to the concentration of the object to be analyzed in the fluid sample. The surfactant reduces nonspecific bonding of the labelled specific bonding partner to a test strip. Accordingly, catching of strips for immnochromatography and nonspecific bonding of the labelled specific bonding partner at a detection zone can be reduced or eliminated.

COPYRIGHT: (C)1999,JPO

(19) 日本国特許庁 ( J P )

(12) 公 開 特 許 公 報 ( A )

(11) 特許出願公開番号

特開平11-64336

(43) 公開日 平成11年(1999) 3月5日

(51) Int.Cl.<sup>6</sup>

G 0 1 N 33/543  
33/53  
33/536

識別記号

5 2 1

F I

G 0 1 N 33/543  
33/53  
33/536

5 2 1

S

E

審査請求 未請求 請求項の数20 O L (全 7 頁)

(21) 出願番号 特願平10-178594

(22) 出願日 平成10年(1998) 6月25日

(31) 優先権主張番号 0 8 / 8 8 5 2 8 5

(32) 優先日 1997年 6月30日

(33) 優先権主張国 米国 ( U S )

(71) 出願人 391007079

バイエルコーポレーション

アメリカ合衆国、インディアナ州、46514、  
エルクハート、マイルス・アベニュー  
1884

(72) 発明者 ゲーリー・ダブリュ・ラインハイマー

アメリカ合衆国、インディアナ州、46526、  
ゴーシェン、カウンティ・ロード 42、  
23743

(72) 発明者 メイタク・テレサ・イップ

アメリカ合衆国、インディアナ州、46516、  
エルクハート、イースト・ジャクソン・ブ  
ールバード 2220

(74) 代理人 弁理士 津国 肇 (外4名)

(54) 【発明の名称】 免疫クロマトグラフィーによる分析対象物の検出方法

(57) 【要約】

【課題】 負に荷電したマトリックス物質のストリップ  
を使用する、流体試料中の分析対象物の検出において、  
負に荷電したマトリックス物質への標識化結合パートナ  
ーの非特異的結合を制御すること。

【解決手段】 流体試料をポリアルコキシル化アミン界  
面活性剤と合わせることを。

## 【特許請求の範囲】

【請求項 1】 流体試料中の分析対象物の濃度の測定方法であって、

a) 毛管現象によりこの中を流体試料が流れることができる、負に荷電したポリマー性物質を含むマトリックス〔該マトリックスは、分析対象物に対する移動可能な特異的結合パートナー（この結合パートナーは、検出可能な標識を有し、分析対象物と反応して分析対象物／標識化特異的結合パートナー複合体を形成することができる）を含有する第 1 領域と、固定化分析対象物または固定化結合パートナー（この結合パートナーは、標識化結合パートナーが特異的なエピトープとは異なる、分析対象物のエピトープに特異的である）を含有する第 2 領域とを有する〕を用意する工程；

b) 流体試料を、ポリアルコキシル化アミンであるカチオン性界面活性剤と合わせる工程；および

c) 分析対象物を含有する疑いがある流体試料をマトリックスに適用し、そして、過剰の未反応の標識化特異的パートナーをさらに反応させるために遊離した状態にして、流体試料中に存在する分析対象物が特異的結合パートナーに結合して分析対象物／標識化特異的結合パートナー複合体を形成するように、流体試料を移動可能な特異的結合パートナーに接触させることによりマトリックスを展開し、それによって、流体試料が、分析対象物／標識化特異的結合パートナー複合体および未反応の標識化特異的結合パートナーをマトリックスに沿って毛管現象により、固定化分析対象物を含有する第 2 領域に運び、この領域で、未反応の標識化特異的結合パートナーが、流体試料中の分析対象物の濃度に反比例して固定化分析対象物に結合するか、または、固定化結合パートナーを含有する第 2 の領域に運び、この領域で、該分析対照物／標識化特異的結合パートナー複合体が、流体試料中の分析対象物の濃度に比例して固定化特異的結合パートナーに結合し、またマトリックスに対する標識化特異的結合パートナーの非特異的結合を低下させる工程を含むことを特徴とする方法。

【請求項 2】 マトリックスが、その中を流体試料が、水平または垂直に流れる、試験ストリップの形態である、請求項 1 記載の方法。

【請求項 3】 流れが、水平である、請求項 2 記載の方法。

【請求項 4】 負に荷電したポリマー性物質が、ニトロセルロース、ポリスルホンまたはポリカルボン酸である、請求項 1 記載の方法。

【請求項 5】 流体試料を、マトリックスに適用する前に、界面活性剤と合わせる、請求項 1 記載の方法。

【請求項 6】 界面活性剤を、流体試料と接触させる前にマトリックスに適用し、マトリックスを流体試料と接触させると再水和する、請求項 1 記載の方法。

【請求項 7】 標識化結合パートナーが、金ゾル標識化

抗体である、請求項 1 記載の方法。

【請求項 8】 流体試料が、尿を含む、請求項 1 記載の方法。

【請求項 9】 界面活性剤が、アミン基の隣にプロピレン基を有するポリマー性界面活性剤を生じる、プロピレンオキシドとエチレンジアミンとの逐次付加から誘導される、四官能性ブロックコポリマーである、請求項 1 記載の方法。

【請求項 10】 ポリマー性界面活性剤が、10,000～30,000 の分子量を有する、請求項 9 記載の方法。

【請求項 11】 糖類を、流体試料と合わせる、請求項 1 記載の方法。

【請求項 12】 尿中の分析対象物の検出方法であって、尿をニトロセルロースのストリップ（該ストリップは、尿試料の適用のための吸い上げ領域と；分析対象物に特異的な標識化抗体を、界面活性剤として、10,000～30,000 の分子量を有する、プロピレンオキシドとエチレンジアミンとの逐次付加から誘導される四官能性ブロックコポリマーと一緒に含有する領域と；標識化抗体と特異的に結合することができる物質が固定化された捕捉ゾーンとを有する）に接触させる工程を含むことを特徴とする方法。

【請求項 13】 分析対象物が、デオキシピリジノリンである、請求項 1 2 記載の方法。

【請求項 14】 抗体が、金ゾルで標識されている、請求項 1 2 記載の方法。

【請求項 15】 流体試料中の分析対象物の測定用の試験ストリップであって、ポリアルコキシル化アミン界面活性剤と共に分析対象物に対する移動可能な特異的結合パートナー（この結合パートナーは、検出可能な標識を有し、分析対象物と反応して、分析対象物／標識化特異的結合パートナー複合体を形成することができる）を含有する第 1 領域、および固定化分析対象物または固定化結合パートナー（この結合パートナーは、標識化結合パートナーが特異的なエピトープとは異なる、分析対象物のエピトープに特異的である）を含有する第 2 領域を有する、負に荷電したポリマー性物質のマトリックスを含むことを特徴とする試験ストリップ。

【請求項 16】 分析対象物／標識化特異的結合パートナー複合体を結合するための固定化手段が存在する第 3 領域を有する、請求項 1 5 記載の試験ストリップ。

【請求項 17】 負に荷電したポリマーが、ニトロセルロース、ポリスルホンまたはポリカルボン酸である、請求項 1 5 記載のストリップ。

【請求項 18】 標識化結合パートナーが、金ゾル標識化抗体である、請求項 1 5 記載のストリップ。

【請求項 19】 界面活性剤が、プロピレンオキシドとエチレンジアミンとの逐次付加から誘導される、四官能性ブロックコポリマーである、請求項 1 5 記載のストリ

ップ。

【請求項 20】 界面活性剤が、10,000～30,000の分子量を有する、請求項19記載のストリップ。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【従来の技術】訓練を受けていない人員でも実施することができる普通の疾患用の単純な診断試験のニーズが存在する。このような試験は、外部の委託検査所で分析を行う必要のある複雑な処置とは対照的な、家庭または医院での試験を助長する。これらの試験の普通の形式は、免疫ストリップの形式である。典型的には、この形式は、この中を流体試料が毛管現象により流れることのできる物質のマトリックスを含む。典型的にはストリップの形態のマトリックスは、試験流体中の分析対象物の存在および／または濃度を、検出可能な標識から放射されるシグナルの検出により求めることができるように、検出可能な標識を有する分析対象物特異的抗体を含有する。ときに免疫クロマトグラフィー用ストリップと呼ばれる、このような試験具の古典的な形式を図1に例示する。図1について、ストリップ10は、調査中の分析対象物に特異的な標識化抗体をゾーン13に有し、この抗体が、ストリップ10の吸い上げゾーン12に適用された流体試料中の分析対象物と結合し、ストリップに沿って流れて免疫複合体を形成し、これがさらに毛管作用によりストリップの捕捉ゾーン14およびオブションの検出ゾーン16の中を移動する。捕捉ゾーン14には、標識化抗体と免疫反応性であり、かつ流体試料中の分析対象物と反応しなかった標識化抗体を捕捉することができる、分析対象物またはその誘導体が固定化されている。捕捉ゾーンに捕捉された標識化抗体からのシグナルを測定して、反比例（試料中の分析対象物の濃度が高いほど、未結合でそのため自由に検出ゾーンに固定化された分析対象物と特異的に結合することができる標識化抗体の量が減少するため）させて試験流体中の分析対象物の濃度に関連づける。検出ゾーン16は、オブションであるが、分析対象物／標識化結合パートナー複合体を結合するための固定化抗マウスIgGを含有することができ、それによって試験が正確に行われたことを確認するための手段として役立つ。

【0002】この種の試験装置に伴う問題は、標識化抗体およびその結合体が、ストリップを形成するマトリックス物質との非特異的結合（NSB）に捕らわれる傾向を含む。このような非特異的結合が起こると、標識化抗体は、捕捉ゾーンに到達する前にマトリックス物質に結合して、標識化抗体の移動が完全に停止するかまたは減少して、捕捉ゾーンおよび検出ゾーンのシグナルが大きく低下するため、この測定法は失敗に終わる。

【0003】このバイアスを修正するために、ストリップを、リン酸緩衝化生理食塩水（PBS）中の1%カゼ

インのようなブロッキング溶液で処理し、水で洗浄し、捕捉および回収ゾーンへの試薬の付着後に乾燥することができる。しかし、このブロッキング工程は、ブロックされた系を最適化するための広範な開発努力を要するため問題が多い。

【0004】米国特許5,451,507号に、免疫クロマトグラフィー用ストリップとして使用するためのブロックされたニトロセルロース膜の調製が記載されており、ここではニトロセルロース膜を、硫酸ナトリウム緩衝液中の1mg/mlウシIgGの溶液中で30分間インキュベートし、次にグルタルアルデヒドおよびウシIgGと共にインキュベートしている。この参考文献はまた、幾つかの例において流体試料と共に約0.05～0.5重量%の非イオン性界面活性剤を含めることの望ましさに言及している。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】考慮中の型の免疫クロマトグラフィー用ストリップの捕捉および検出ゾーンにおける標識化特異的結合パートナーの非特異的結合を縮小または排除する手段を提供することが、望ましいことであり、また本発明の目的である。

【0006】

【課題を解決するための手段】本発明は、流体試料中の分析対象物の濃度の測定方法に関し、この方法は、

a) 毛管現象によりこの中を流体試料が流れることのできるマトリックス〔このマトリックスは、負に荷電したポリマー性物質を含み、そして分析対象物に対する移動可能な特異的結合パートナー（この結合パートナーは、検出可能な標識を有し、分析対象物と反応して分析対象物／標識化結合パートナー複合体を形成することができる）を含有する第1領域、および固定化分析対象物または固定化結合パートナー（この結合パートナーは、標識化結合パートナーが特異的なエピトープとは異なる、分析対象物のエピトープに特異的である）を含有する第2領域を有する〕を用意する工程；

b) 流体試料を、ポリアルコキシル化アミンであるカチオン性界面活性剤と合わせる工程；および

c) 分析対象物を含有する疑いがある流体試料をマトリックスに適用し、そして、流体試料中に存在する分析対象物が、分析対象物／標識化特異的結合パートナー複合体を形成し、かつ過剰の未反応の標識化結合パートナーをさらに反応させるために遊離な状態にして、流体を移動可能な特異的結合パートナーに接触させることによりマトリックスを展開し、それによって、流体試料が、分析対象物／標識化結合パートナー複合体および未反応の標識化特異的結合パートナーをストリップに沿って毛管現象により、固定化分析対象物を含有する第2領域に運び、この領域で、未反応の標識化特異的結合パートナーが、流体試料中の分析対象物の濃度に反比例して固定化分析対象物に結合するか、または、固定化結合パートナ

ーを含有する第2の領域に運び、この領域で、該分析対象物／標識化特異的結合パートナー複合体が、流体試料中の分析対象物の濃度に比例して固定化特異的結合パートナーに結合する工程を含む。界面活性剤により、試験ストリップに対する標識化特異的結合パートナーの非特異的結合が低下する。

#### 【0007】

【発明の実施の形態】本発明は、最初に、毛管現象によりこの中を試料が流れることのできるマトリックスの形態の試験ストリップを用意することにより実施される。典型的には、このマトリックスは、この中を試験流体が水平に流れるストリップの形態であろうが、このマトリックスは、この中を試験流体が頂部から底部へまたはその逆に垂直に流れることのできる層状に組み立てることもできよう。以下の考察はストリップの形式に焦点を絞っている。

【0008】このストリップは、毛管現象により試験流体およびそこに含まれる分析対象物がこの中を流れることのできる、任意の負に荷電したマトリックス物質から調製することができる。したがって、適切なマトリックス物質は、ニトロセルロース、ポリスルホンおよびポリカルボン酸を含む。ニトロセルロースは、ストリップを組み立てるための好適な物質である。これらの物質は、負の電荷を有することで関連している。

【0009】本発明に関する使用のために特に適切な免疫クロマトグラフィー用ストリップの形式は、米国特許 4, 446, 232号に開示された形式であり、この特許には、抗原の存在の測定用の試験具が記載されているが、この試験具は、測定すべき分析対象物に特異的な固定化した分析対象物および酵素結合抗体が備えられた第1ゾーンを有するマトリックス物質のストリップを含む。この標識化抗体は、試験流体と共に第1ゾーンに導入された分析対象物と反応すると、第2ゾーンに流れていくことができるが、試験流体中に分析対象物が存在しないと、固定化分析対象物との相互作用により第1ゾーンに結合されているため、そのように流れていかない。分析対象物は典型的には抗原であるが、この形式は、分析対象物として抗体の存在を検出するように設計することができる。この形式の代替となる形式は、検出ゾーンが、標識化結合パートナーが特異的であるエピトープとは異なる、分析対象物のエピトープに特異的な固定化結合パートナーを含有する形式である。これは、いわゆるサンドイッチの形式を使用する標識化結合パートナーを捕捉する手段を備える。別法では、ストリップの別の領域に抗マウス Ig Gのような結合体に対する固定化結合パートナーを配置して、これによって標識化特異的結合パートナーと分析対象物の間に生成した複合体を捕捉する。即ち、分析対象物に対する標識化結合パートナーが結合しているゾーンから、ストリップの下流に位置する分離した検出ゾーンにその結合体を固定化することにより、検

出可能な標識の物理的に検出可能な性質を測定して、その強度、およびよってストリップの特定の領域における検出可能な標識の濃度を求めることができる、2つのゾーンが用意される。固定化分析対象物または分析対象物の限定エピトープに特異的な結合パートナーを捕捉手段として含有する第2ゾーンにおける検出可能な標識の物理的に検出可能な性質、および標識化結合パートナーに対する固定化抗体が捕捉手段である第3ゾーンにおける標識の物理的に検出可能な性質からのシグナルを測定し、そしてこれらのシグナルの比を求めることにより、分析対象物濃度の試験の正確さを上げることができる。

【0010】測定法の形式の選択に関わらず、最終結果の正確さは、マトリックス物質への標識化結合パートナーの非特異的結合（NSB）により歪められることがあり、そして、負に荷電した膜に別のブロッキング層を適用する余分な工程を実施する必要なく、この問題を縮小または排除することが本発明の目標である。これは、適切なポリアルコキシル化アミン界面活性剤を流体試料と合わせることにより達成されるが、これを行うためには、流体試料を、ストリップと接触させる前に界面活性剤と混合するなどの種々の方法による。代替法は、ストリップの吸い上げパッドを界面活性剤で処理することであり、そのため、流体試料との接触により界面活性剤が再水和して、試料と共に標識化結合パートナーゾーン

（図1の13）、捕捉ゾーンおよび検出ゾーンへと流れていく。第3の好適な方法は、界面活性剤を標識化結合パートナーと合わせて、この組合せをゾーン13に適用して試験ストリップの一部とすることであり、これによって流体試料とのストリップの接触により再水和が起こり、標識化結合パートナーおよび標識化結合パートナー／分析対象物複合体と共に界面活性剤が捕捉および検出ゾーンに流れていく。これらの方法の任意の1つにより、試料中の界面活性剤の必要な分散が与えられる。好適な界面活性剤は、商品名テトロニック（Tetronic）

（登録商標）の下で入手可能である。テトロニック界面活性剤は、プロピレンオキシドとエチレンオキシドのエチレンジアミンへの逐次付加から誘導される四官能性ブロックコポリマーである。これらの界面活性剤中のアミン残基は、界面活性剤に僅かにカチオン性を与え、その熱安定性に寄与している。テトロニック界面活性剤は、界面活性剤分子のペンダント部分を含むポリエトキシ基と共に、アミン窒素に直接結合するポリプロポキシ基を有する。このことは、（非特異的結合を阻害する目的について）あまり有効でないテトロニック（登録商標）R界面活性剤とは対照的であり、この界面活性剤は、アミン窒素とポリプロポキシ基の間に散在したポリエトキシ基を有する界面活性剤が生じる、エチレンオキシドとプロピレンオキシドのエチレンジアミンへの逐次付加により製造される。

【0011】また、金ゾル標識化抗体（GSA）のよう

な標識化結合パートナーは、測定系への糖類の導入により、ストリップの第 1 領域からの放出、試料との合流、および捕捉および検出ゾーンへのストリップに沿った流れをさらに容易に引き起こされることが発見された。トレハロース、ショ糖、フルクトースまたはマルトースを含むが、これらに限定されない糖類は、典型的には、標識化結合パートナーの 10D 当たり 0.2 重量%~5 重量%の量で標識化結合パートナーと合わせる。

【0012】典型的には、試験流体は尿であるが、全血、血漿、血清、汗または唾液のような他の体液を試験することもできる。多くの臨床的に重要な分析対象物は、尿および他の体液中に存在し、本発明の手段により測定可能である。これらの分析対象物としては、デオキシピリジノリン (DPD)、ヒト血清アルブミン、前立腺特異抗原、濫用薬物、TDM 薬物、癌マーカー、心臓病マーカー、hCG、ストレプト A (strep A) およびヘリコバクターピロリ (*Helicobacter pylori*) がある。分析対象物の検出可能な標識は、再現性のある手段により検出可能な任意の残基であってよい。即ち、標識は、酵素、放射性同位体、化学発光物質、または好ましくは金ゾルのような可視微粒子標識であってよい。

【0013】本発明の実施方法は、以下の実施例によりさらに例示される：

#### 【0014】実施例 I

ニトロセルロース膜のストリップ (2.54cm×43.18cm) を使用して、3つの捕捉ゾーン 14 を有する他は、図 1 に図解されるのと同様な試験ストリップを調製した。以下の方法でニトロセルロース膜上に試薬を付着させた：1 バンドの抗マウス IgG (PBS 中 1mg/ml) をマトリックス上に底部から約 3 および 3.5cm にそれぞれ 2 μl および 1 μl の量で付着させ、次に 3 バンドの DPD-PEG 結合体 (PBS 中 1mg/ml) をニトロセルロース膜上に底部から約 0.5、1 および 1.5cm に 2 μl/cm で付着させて、3つの捕捉ゾーンを用意した。処理した膜を 40℃ で約 17 分間乾燥した。

【0015】以下の組成を有する金ゾル-抗 DPD 抗体 (GSA) 懸濁液を調製した：2mM ホウ酸 (pH 9) 中 GSA (100D)、14.6% (GSA 10D 当たり 1.46%、OD は 530nm での光学密度単位である) トレハロース、0.5% ウシ血清アルブミン (BSA) および界面活性剤として 1.26% (GSA 10D 当たり 0.126%) テトロニック 1307。GSA 懸濁液 3 μl のアリコートを手ピペットで GSA パッド (0.2" × 0.2"、ワットマン (Whatman) ガラス繊維 F 075-07) に移し、空気乾燥した。捕捉ゾーンと検出ゾー\*

\* を含有するニトロセルロースストリップを、ポリスチレン裏材上にアクリル酸系接着剤を用いて組み立てた。0.04" の重なりでニトロセルロースに隣接させて GSA パッドを組み立てた。次に 0.04" の重なりで GSA パッドに隣接させて吸い上げパッド (0.5" × 0.2"、ワットマン (Whatman) ガラス繊維 F 075-07) を組み立てた。

【0016】試験のため、ストリップを試験液 (即ち、測定量の DPD を含有する尿) を含有する試験管に約 3 秒間浸し、液から取り出して、クリニテック (CLINITEK) (登録商標) 50 反射度計の検体テーブルに載せて、各捕捉および検出バンドの % 反射度を測定および記録した。0~250nM の範囲の 7 濃度の DPD で、線形の用量作用曲線を得た。

【0017】種々の濃度の金ゾル-抗 DPD 懸濁液で、他のテトロニックおよびテトロニック R 界面活性剤により実験を繰り返した。各場合に、試験流体の適用によるパッドからの GSA の放出を、ストリップを試験液に浸した 3 分後、GSA パッドに残った GSA の量 (赤色) により測定した。「-」は、80% を超える GSA がパッド上に残ったことを示すために使用した。1つの「+」は、50% を超える GSA がパッド上に残った不十分な放出を示し、「++++」は、10% 未満の GSA がパッド上に残った良好な放出を示す。2つおよび 3つの「+」評価は、中間的な放出値に与えた。ニトロセルロースストリップに対する金ゾル標識化抗 DPD の非特異的結合は、GSA パッドから放出後、GSA パッドと第 1 捕捉バンドの間の領域および捕捉ゾーンと検出ゾーンとの間の領域のような、捕捉試薬も検出試薬も適用していない領域のニトロセルロースに結合した GSA の量 (赤色) により測定した。これらの領域は、抗体に結合するための捕捉または検出試薬を全然含まないため、GSA は、これらの領域に結合するはずではない。処方中に界面活性剤を使用しないとき、90% を超える GSA は、GSA パッドと第 1 捕捉バンドの間の領域に非特異的に結合した。「-」は、80% を超える GSA が非特異的結合に捕らわれたことを示し、1つの「+」は、50% を超える GSA が捕捉および検出ゾーン以外の領域に結合した、非常に強力な非特異的結合を示し、そして「++++」は、10% 未満のほとんど非特異的結合がないことを示す、非特異的結合の評価系を確立した。2つおよび 3つの「+」評価は、中間的な放出値に対して与えた。これらの実験の結果により表 1 を作成した。

#### 【0018】

#### 【表 1】

表 1

分類	界面活性剤	平均分子量	%	GSAパッド からの放出	ニトロセルロー スのNSB
テトロニックR	70R-2	3870	0.8	+	++
	150R-1	8000	0.8	++	++
テトロニック	1301	6800	0.8	+++	++++
	1501	7900	0.8	+++	++++
	1107	15000	0.8	++++	++++
	1307	18000	0.14	+++	++++
			0.2	+++	++++
			0.7	++++	++++
			1.3	++++	++++
			5	++++	++++
	1508	30000		++++	++++

【0019】使用したテトロニック界面活性剤は、バスフ (BASF) により製造されている。2つの分類のテトロニック界面活性剤がある；テトロニックおよびテトロニック R。テトロニック界面活性剤は、プロピレンオキシドとエチレンジアミンの逐次付加から誘導される四官能性ブロックコポリマーである。生じるポリマー性界面活性剤は、アミン基の隣にプロピレン基を有する。テトロニック R 界面活性剤は、アミン基の隣にエチレン基を有するポリマー性界面活性剤が生じる、エチレンオキシドとプロピレンオキシドのエチレンジアミンへの逐次付加から誘導される四官能性ブロックコポリマーである。これら両方の分類の界面活性剤は、分子にカチオン性を与えるアミン官能基を含有する。ニトロセルロースおよび種々の他のマトリックス物質は、負に荷電しているため、正に荷電した界面活性剤は、ニトロセルロース表面に結合する傾向があり、それにより金ゾルー抗体結合体の非特異的結合をブロックしている。表 1 に提示されるデータに基づくと、テトロニック界面活性剤は、GSA 放出の増強と非特異的結合の阻害の両方に関して、テトロニック R 界面活性剤よりも好適である。幾つかの 7900 以上からの高分子量テトロニックは、僅かな例外はあるが、両方の範疇で 4 つの「+」の能力を備えるため、特に好適である。テトロニック 1307 に関するデータに示されるように、界面活性剤の濃度が上昇するほ\*

\* ど能力が改善するが、本データは、目的の結果を達成するのに、0.7%を超える濃度は必要でないことを示唆している。

【0020】テトロニック界面活性剤の望ましい分子量は、5,000 以上であり、好ましくは 10,000 以上であり、10,000~30,000 の範囲の分子量が特に望ましい。使用される界面活性剤の濃度は、典型的には、GSA 処方に界面活性剤が含まれるとき、GSA 10D 当たり、0.5~10 重量%であり、好ましくは 0.05~1 重量%である。各ストリップは、典型的には金ゾルー標識化抗体 300D により調製する。界面活性剤がストリップに含まれるとき、ストリップ当たり 15  $\mu\text{g}$ ~1,000  $\mu\text{g}$  の充填で通常充分である。界面活性剤を試料に加えるとき、0.02~1.3 重量%の濃度を使用する。

【0021】テトロニックカチオン性界面活性剤での実験が成功したにもかかわらず、同様な方法で試験した他のカチオン性界面活性剤では、テトロニックのようには成功しなかった。これらの実験の結果により表 2 を作成したが、ここで「-」は、GSA 放出の欠如および非特異的結合が非常に重篤であったことを示した。

【0022】

【表 2】

表 2

型	化合物	濃度、%	GSAパッド からの放 出	NC の NSB
カチオン性	塩化ベンザルコニウム	0.6%	-	+
	塩化ベンジルジメチルテトラデシルアンモニウム	0.8%	-	-
	臭化デカメトニウム	0.8%	-	-
	塩化ベンジルジメチルヘキサデシルアンモニウム	0.8%	-	-
	臭化ジメチルジオクタデシルアンモニウム	0.8%	-	-
	塩化メチルトリオクタデルアンモニウム	0.8%	-	-
	臭化ベンジルジメチルドデシルアンモニウム	0.8%	-	-
	塩化セチルピリジニウム	0.8%	+	-
	臭化セチルジメチルエチルアンモニウム	0.8%	++	++

## 【0023】実施例II

本発明に有用なカチオン性界面活性剤を糖類と合わせる＊

A：	金ゾル抗体結合体：	1．	70D (@ 530nm)
	トレハロース：	2．	5%
	テトロニック 1107：	0．	17%
	BSA：	0．	06%
B：	金ゾル抗体結合体：	1．	70D (@ 530nm)
	テトロニック 1107：	0．	17%
	BSA：	0．	06%

【0024】全ての百分率は、重量に基づく（即ち、G S A懸濁液の重量に対する成分の重量％）。膜を乾燥後、処方Bからの金ゾル抗体結合体は、凝集して、その放出および流れは、処方Aに比べてはるかに悪いことが判った。

【図面の簡単な説明】

【図1】免疫クロマトグラフィー用ストリップを示す。＊

＊ことの利点を証明するために、下記の2つの処方に関して試験を行った：

※【符号の説明】

- 10 ストリップ
- 12 吸い上げゾーン
- 13 標識化抗体ゾーン
- 14 捕捉ゾーン
- 16 検出ゾーン

【図1】

